

등록특허번호 제0150193호(1998.12.01.) 1부.

제0150193

(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl. 901N 31/00	(45) 공고일자 1998년12월01일
(21) 출원번호 1989-001116	(11) 등록번호 제0150193
(22) 출원일자 1989년01월31일	(24) 등록일자 1998년06월12일
(30) 우선권주장 9802237 1989년02월02일 영국(39)	(65) 공개번호 제1989-013478
	(43) 공개일자 1989년09월23일

(73) 특허권자 비이오코드 인코포레이티드 채임스 에이치. 릿텐베그
미합중국 메사유우셋츠주 02630 벤스타이블 밀 웨이 275
(72) 발명자 마이클 존 웨이스
영국 캠트주 션팅포ون시 비어클리 코트로 3
데이빗 브리엄 브리튼
영국 캠트주 폐버스 바이싱워드 로우드 36
(74) 대리인 치커글

설사관: 길희석

(54) 이커 회합물의 검출방법

요약

내용 있음.

원서서

【발명의 명칭】

이커 회합물의 검출 방법

【발명의 상세한 설명】

본 발명은 면역분석에 의해 회학제 미커 회합물들을 검출하는 방법과 이 분야에서 이러한 검출을 수행할 수 있는 분석기 키트에 관한 것이다. 특히 본 발명은 예체 제품, 특히 혈장과 같은 기름을 기재로 하는 제품들에서 미커 회합물을 검출하는 것에 관한 것이다.

세계의 여러 지역에서, 그리고 많은 산업적 제품들과 관련되어 겪게 되는 문제점은 모조 제품이 있다는 것이다.

세계 도처에서, 산업들은 고객들이 그들의 물질을 다른 것들로부터 세분화할 수 있게 하기 위해서 유통으로 식별가능한 외관을 갖는 제품들이 팔리게 되는 물질을 제공한다. 결과적으로 이들의 고객들은 어떤 물질 기준과 유통으로 식별가능한 물질의 외관을 관련시키는 것을 터득하여 이들이 그러한 기준들을 만족시킨다면 다른 것들에 선후하여 유통으로 식별가능한 외관이 제공된 제품을 구입할 것이다.

일단 고객들이 유통으로 식별가능한 특정 외관이 제공되어 있는 물질들을 선후하기 시작하면, 산업들은 모조품에 영향받기 쉬워진다.

모조품은 진품이 갖는 물질의 외관과 혼동할 정도로 유사한, 유통으로 식별가능한 외관을 갖는 물질로 이루어져 있다. 모조 물질에 제공된 유통으로 식별가능한 외관을 본 고객들은 그들이 진품을 산다는 기대로 이 물질을 사용한다.

외인으로 식별가능한 외관을 갖는 물질을 제공하는 제품들이 많이 공지되어 있다. 일반적으로 유통으로 식별가능한 외관은 직접 물질에 제공되거나 또는 물질에 관련된 물품, 예컨대, 표지, 포장지 또는 용기에게 제공된다. 유통으로 식별가능한 외관은 예컨대, 식별기능한 험상 또는 구조, 식별기능한 마킹 또는 이 품의 조합일 수 있다. 특히 바啷직한 유통으로 식별가능한 외관은 상표이다.

모조품의 물질은 진품의 물질과 동일하거나 다를 수 있다. 흔히 모조품의 물질은 동일하니, 품질이 끌어진다.

모조품을 제조할 수 있는 여러 미커 제품들이 있다. 한 병밖에서, 제조 위조자들은 진품의 외관을 모방하여 유통으로 식별가능한 외관을 갖는 모조 물질을 제공한다. 또 다른 방법으로, 제품 위조자들은 진품의 물질이 갖는 유통으로 식별가능한 외관에는 아무런 영향을 미침이 없이 진품의 물질의 질을 저하시기나 대체시킨다.

그러한 문제점의 한 예는 위조자의 기름을 진품에 첨가한으로써 윤활유 또는 기름을 기재로한 다른 제품의 품질을 저하시키는 것이다. 그러한 품질 저하는 모린 제조업자에게 재정적으로 손해를 줄뿐만 아니라, 성능을 저하시키거나 소비자에게 제품을 끼치고 결과적으로 진품의 명성을 줄지 않게 한다.

이러한 문제점을 극복하는 방법으로는, 제품에 영료를 포함시키는 것이 미친에 제안되어졌다. 그러나,

러한 전략은 쉽게 모방된다. 그러나 육안으로 쉽게 검출되지 않는 미커를 포함시키며, 절이 저하된 정도(흔히 자마다)를 경정하기 전에 절이 저하되었음을 모르는 제품의 성능을 물리적 분석을 위한 기초 실증, 예전에, 그로이트그레피를 활용할 필요가 있다. 결과적인 실증은 아래와 백업(back-up) 실험설정의 결과를 얻어가며, 이를 수 있는 그들의 배경지역에 있어서 관리하지 않고 모조품을 방지하는 기술의 효과를 보낸다.

모조품을 검출하려는 시도는 대체로 이 분야에서 사용할 수 있는 방법에 분명히 필요하다.

유럽 특히 출원 과정 번호 EP-A-0260529에는 물질 내에서 염소화된 폐를 특히 팬터클로로페놀을 동정하고 이 물질 내에서 심기 화학적의 능력을 측정하기 위해 서성을 수 있는 모노클론 및 폴리클론 항체가 기술되어 있다. 실제로 서른 분야에 팬터클로로페놀이 삼중체 또는 부부체로서 물질에 영향한다는 것이 기록되어 있다. 그러나 EP-A-0260529에는 제품, 즉, 육안으로서 서류를 기관 물질 내에서 염소화된 폐들을 동정하는 것이 기술되어 있지 않다. 더욱이 EP-A-0260529에는 미커 화합물로서 염소화된 폐들을 서용하는 것이 기술되어 있지 않다. 특히 EP-A-0260529에는 모조품으로부터 진정 구별하기 위해 진정과 염소화된 폐를 겉보기로 구별하는 기술을 기술하고 있다.

파테로이드 등 산출제의 면역 분석의 개발이라는 표제로 캐나다 오타와에서 1989년 8월 10-15일에 열린 학술대회 학제 제 62 국제학회에서 M. J. 우드아이스 일행은 광고 밝은 물질로 네일 시글로프로판 키르복리트 및 n-페녹시시엔조산의 디제스팅 및 결합체(composite) 및 이 엔탈피 결합체들을 사용하여 저온으로 물리적 특성을 기술하였다. 또한 흥미, 물 및 토양에서 서류파드린 대사를, n-페녹시시엔조산 및 디제스팅 물질로 네일 시글로프로판 키르복리트의 분석도 기술하였다. 그러나 미커 화합물로서 n-페녹시시엔조산 또는 디제스팅 물질로 서류파드린 키르복리트를 사용하는 것과 같은 것으로서 사용 가능한 외연을 갖는 것은 어떤 출처나에서 이들 중 어떤 화합물을 면역 분석에 의해 검출한 것은 전혀 기술되어 있지 않다.

본 발명에 따르면서, 수성 대체 내에서 미커 화합물을 서용하고자 이 미커 화합물에 특이적인 면역 분석에 대해서는 서류 내에서 미커 화합물을 동정하는 것으로 이루어진다. 즉, 미커 화합물을 서용하는 방법으로 수용된다. 제작과 함께 미커 화합물의 존재를 검출하는 방법을 제시한다.

미커 화합물은 매우 다양한 방법으로 제작과 경험할 수 있는 것으로 이해된다. 따라서, 미커 화합물은 제작의 일부 또는 전체, 제품과 관련된 용기, 보장 또는 부지의 일부 또는 전체에 존재할 수 있다. 미커 화합물을 보거나 제작을 혼동되나, 대안으로는, 제품과 독립적으로 존재할 수도 있다. 이를 들면, 미커는 제작과 함께 미커 화합물의 존재를 표시할 수 있다.

제작은 그체이거나 유통될 수 있다. 고체 제품의 예에는 세미액적, 경제, 품종 및 분말: 삼중체, 제초제, 살진균제 및 비료같은 농화학제의 고체 배합물, 웃간과 같은 액체: 가세트, 페인트, 폴리파이 디스크, 풍백류 디스크 및 속용기 레코드와 같은 고체 충전물: 일회용판 세트 등이다. 그리고 같은 용기: 사용량 분량 및 커리어가 있다.

유체: 생산자의 예에는 유통수, 가습기, 디저 및 액체 석유 제품과 같은 기름을 기초로한 제품: 도료: 향료: 페인트: 포도주, 위스키, 세리, 진 및 보드카와 같은 음료: 시럽, 유약 및 헌액과 같은 액체의 세제 및 세탁제: 액체 및 헌액 및 풍백류 배합제: 및 풍백류 헌액이다. 제품은 비행액화하는 액체, 헌액화하는 풍백류와 같은 기능을 기체로 한 제제이다.

미커 화합물은 육안으로는 검출할 수 없으며, 본질적으로 수용성이어야 한다. 미커 화합물은 면역 분석에 의해 검출될 수 있어서 하루 또한 그들이 미루하는 제품과 양립될 수 있어야 한다는 것으로 이해된다. 면역분석에 기술분야의 담당자들은 미커 화합물을 사용하기에 적합한 화합물을 동정하는 데 어려움이 있을 것이다.

미커 화합물로 사용하기에 적합한 유통용 화합물은 탄소원자, 수소원자, 및 산소와 같은 원소로부터 선택된 히나 이상의 혜택으로서는 흥기 화합물과 그의 결합 것이다. 일의로 히나 또는 그 이상의 혜택으로 활용되는 예를 들면, 염소, 풍백 또는 오도의 원자와 같은 할로겐 원자, 인 원자, 황 원자도 존재할 수 있다. 바람직한 화합물은 키르복리트, 카르복실산, 에스터스, 가로, 알코올, 페놀, 아민, 아닐린, 티트루, 아미드, 및 그들의 일원들이다. 특히 바람직한 화합물들은 방향족 키르복리트이다. 예컨대, 펜조산: 페놀: 디카로일 및 폴리에스터, 아미드: 페인트: 페인트: 담배: 시밀: 판수화물, 아크네, 풍 및 담배류: 헥산: 및 폴리에스터, 앤들로우: 대축시리즈: 고리백산에 있다.

생화학적으로 활성 형태의 특정 화합물을 대체 선택적 형태들을 생산하는 것이 가능하다. 분산적인 분석 기술에 대해서는 생화학적으로 활성 형태들의 화합물을 구별하기 어렵기 때문에(즉, 단지 미량의 분석 물질이 분석에 이용될 때), 경력으로서는 화합물은 비행액화하는 log P 가 -2.6 내지 -5.0, 비행액화하는 -1.5 내지 4.5, 가장 비행액화하는 0 내지 4.0 범위이다(본래에서 사용된 log P는 2.5에서 온라인과 출시에 대한 화합물의 분배계수의 대수이다). 따라서, n-페녹시시엔조산은 예를들면 log P가 3.9이다.

생화학적으로 활성 형태의 특정 화합물을 대체 선택적 형태들을 생산하는 것이 가능하다. 분산적인 분석 기술에 대해서는 생화학적으로 활성 형태들의 화합물을 구별하기 어렵기 때문에(즉, 단지 미량의 분석 물질이 분석에 이용될 때), 경력으로서는 화합물은 비행액화하는 log P 가 -2.6 내지 -5.0, 비행액화하는 -1.5 내지 4.5, 가장 비행액화하는 0 내지 4.0 범위이다(본래에서 사용된 log P는 2.5에서 온라인과 출시에 대한 화합물의 분배계수의 대수이다). 따라서, n-페녹시시엔조산은 예를들면 log P가 3.9이다.

생화학적으로 활성 형태의 특정 화합물을 대체 선택적 형태들을 생산하는 것이 가능하다. 분산적인 분석 기술에 대해서는 생화학적으로 활성 형태들의 화합물을 구별하기 어렵기 때문에(즉, 단지 미량의 분석 물질이 분석에 이용될 때), 경력으로서는 화합물은 비행액화하는 log P 가 -2.6 내지 -5.0, 비행액화하는 -1.5 내지 4.5, 가장 비행액화하는 0 내지 4.0 범위이다(본래에서 사용된 log P는 2.5에서 온라인과 출시에 대한 화합물의 분배계수의 대수이다). 따라서, n-페녹시시엔조산은 예를들면 log P가 3.9이다.

미커 화합물로 사용하기에 적합한 화합물은 n-페녹시시엔조산으로 밝혀졌으나, 미킹해야 제작에 해가 되지 않고 함께 혼합될 수 있는 한 디장은 화합물들이 살기 목적에 적합하다는 것으로 이해된다. 따라서, 미킹해야 제작에 따라, 기름-화학성, 수-화학성, 수-온화학적 화합물들을 미커 화합물로서 사용해야 한다.

제품이 액체일 때, 미커 화합물은 바람직하게는 우선이고 액체 제품에 유통되어 그의 존재가 여주의 분야에 의해서는 미커를 검출될 수 있어야 한다. 이는 또한 바람직하게는 남새가 있어야 한다.

바람직하게는 단지 미량의 미커가 사용된다. 견본으로 미커 화합물은 1 ppb(part per billion) 내지 25 ppb(part per billion) 범위의 능도로 제작된다. 예전에는 1 ppb로 혼동되는 것이었지만, 바람직하게는 능도가 10 ppb 내지 15 ppb이고 더욱 바람직하게는 1 내지 10 ppb일 것이다. 따라서 예를 들면, 미커 화합물의 능도는 약 10 ppb가 되어야 미커 화합물에 따라 소량의 ppb도 검출하기에 충분할 수 있다.

25 ppm 또는 그 이하의 마커 화합물 농도를 검출하는 능력은 본 발명에 따른 방법의 특별한 염점이다. 따라서 단지 소량의 마커 화합물만을 사용할 필요가 있다.

또 다른 특징에 따라, 본 별명은 -2.5 내지 5.0 벨위의 $\log P$ 를 갖는 육안으로 결출되지 않으며 본질적으로 수용성인 미커 화합물을 1 ppb 내지 25 ppb를 함유한 기름을 기제로한 제품을 제공한다.

미거 화합물이 수성 매체에서 제품과 혼합되면, 면역분석은 그 샘플에 직접 행할 수 있고 필요에 따라, 고형물을 제거하기 위해 어과시킨 후 행할 수 있다. 그렇지 않으면 미거 화합물을 수성 용액에 넣어야 한다.

일반적으로, 수성 응액 내에 미카 화합물 샘플을 재공하는 것은 제품으로부터 미카 화합물의 용매 추출 제품의 수성 응액의 허석: 어파: 중발: 및 미카 화합물의 고체상 추출. 예컨대. 이온교환 수지 또는 크로마토그라피(에컨대. 실리카를 수용하여) 중에서 선택한 하나 또는 그 이상의 단계들을 포함할 것이다. 미카를 고기 기지제 제품의 경우는, 응액 추출이 필요하다.

본 분석은 선택된 마커 화합물에 대하여 미라-제조된 형체를 사용하여 수행된다. 이러한 형체는 특별한 화학적 특성에 대하여 특이적인 모노클리니컬 또는 투리컬 형체를 수득하게 하는 공기 기술에 의해 만들어진다.

함체는, 동물을 위해 학회동물(학원)에 노출시켰을 때 반응하는 B-웹포사이트로서 알려진 핵체-생성 세포에 의해 동물에서 생성된 단백질이다. 이를 양체는 이들의 생성을 자극하는 특별한 학회동물에 특이하게 결합된다.

2-단계 화학 반응에서 아핀성능(affine function) 분자를 사용하여 면역원 단체를 합성에 부착시킬 수 있다. 이것은 면역 반응을 개선할 수 있는 단체 및 힘줄 사이에 스페이서(spacer arm)을 제공한다. 화합물을 이 단체 또는 아핀성능 분자에 화학적으로 결합하기 위해서, 이것은 그 자체가 관능성기를 함유해야 한다. 바람직한 관능성기는 아미노기, 히드록시기 및 카르box실기이다.

상이한 형태로 표시되는 경우를 때 매우 다양한 상이한 형태-생성 세포들이 자극된다. 이러한 반응에 의해

특별한 히브리도미가 선택되었을 때, 주지된 기술을 사용하여 모노클론 항체를 많은 양으로 쉽게 생성할 수 있다. 원한다면, 이를 항체를 암고추면 (horse radish) 퍼옥시다제 또는 알カリ성 포스피타제와 같은 소스로 기획된다.

화학물에 대한 모노글론 형체 및 폴리글론 형체를 생성하는 기술이 당업자에게 공지되어 있다. 이러한 기술이 설명된 참고문헌으로는, 코흘라, 지이, 및 밀스테인, 쇼이, 네이쳐, Vol 265, P 495(1975)와 아카데미 프레스 1980년부분) 및 1981년부분)에 의해 범기되고 뜬 부니카스, 에이처 및 탄곤, 제이. 엘.에 의해 각각 전자저널의 반면 Vol 50 및 Vol 79에 명명한 후속 저작으로 각각 제작되었다.

— 며 는 시 래 조 산 에 대 한 신 구 한 모 는 를 를 한 체 를 표 환 하 다.

수정된 내용은 2024년 1월 1일부터 적용됩니다. 이전 기준으로 계약된 고객은 기존 계약 조건에 따라 서비스를 제공받을 수 있습니다.

다. 이 방법은 바람직하게는 미커 화합물을 정량적으로 동정하는 것을 포함한다. 이 방법에서, 질이 저항되는 정도를 확인할 수 있다.

수성 폐체 내에 살기 미커의 생활을 제공하기 위한 수단은 미커를 수성 용액으로 하는데 필요한 일의의 용제 및/또는 필요한 고형물을 제거하기 위한 여과 수단 및/또는 고체 수질 향상 카본(이를 드린, 이온 교환수지를 활용하는 활성탄) 또는 실리카(와 같은 카트마도그리파예체)를 포함할 수 있다.

면의분은 수단은 적당량 공급된 모노클론 또는 폴리클론 항체를 포함할 수 있다. 이는 또한 고체상에 결합될 수 있는 항체도 활용할 수 있다.

기준에 대해 대체로 기준을 바탕으로 면밀히 고려해보는 경우에 기여하는 수단은 전경에 대해 기여하는 수단을 페터슨 티모니아 시장에 대한 이해를 확장하는 데 도움이 된다. 예상 수익, 경쟁 비율 또는 같은 경제 지표에 대한 이해를 확장하는 데 도움이 있는 면밀한 고려는 페터슨 티모니아 시장에 대한 이해를 확장하는 데 도움이 있다. 예상 수익, 경쟁 비율 또는 같은 경제 지표에 대한 이해를 확장하는 데 도움이 있는 면밀한 고려는 페터슨 티모니아 시장에 대한 이해를 확장하는 데 도움이 있다.

본 번역은 다음 실증예들을 참고로하여 더 명확화하였다.

[설사예_11]

[미리(mirri)] 친환경으로서 이용하기 쉽게 고아를 친환경으로

卷之三

■-페록시벤조산(합성, 이후에 PBA로 언급)의 율란의 단백질 결합체를, 먼저

이후의 단백질 결합체를 탐지하고, 시약의 제거를 절경하고 합성을 갖는 단백질의 부위를 재조합으로써 재조합 단백질 결합체를 제조한다. ‘C형 사설 합성을 갖는 단백질의 부위를 재조합’을 유도체를 제조한 다음, 단백질과 유도체를 결합시켜서 재조한다. ‘C형 사설 합성을 갖는 단백질의 부위를 재조합’으로써 이후의 단백질 결합체를 탐지하고, 시약의 제거를 절경하고 합성을 갖는 단백질의 부위를 재조한다.

1) PBA 유도체의 제조

회학식 1



삼기식에서 R은 $-(CH_2)_nCO$ 애이다.

중간체인 염화벤조일계 b) 글리신 및 c) 글리신 글리신을 수산화 낫트륨 존재 하에 벤조임시키고나서, 산 가수 분해하여, b) RI= -CH₂-COOCH₃인 일반식 I의 유도체 및 c) RI= -CH₂CONHCOOCH₃인 일반식 I의 유도체의 두 가지 유형은 모두 다른 수식으로 표시된다.

수성 테트라히드로푸란 내에서 벤질 4-아미노부티레이트 및 3-(3'-디페닐아미노프로필)-1-에틸 카르보디이미드을 반응시켜 $\text{R}_1 - (\text{CH}_2)_3\text{COOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{Ph}$ 의 외부식 1의 혼합물을 수조하고 이어서 테트라히드로푸란 내에서

중단상팔리다음 측매로 수소 첨가 분해하여 일반식 1의 유도체 a)를 제조할 수 있다.

유도체를, 균일한 용액이 액체를 때까지 첨가되는 테트라히드로포루탄 및 물 내에 탄산나트륨을 중단상나트륨을 화학밀봉의 양으로 첨가하고 중단건조시킬 때 의해 미의 낙트륨 염(함에서 첨가 암해)으로 친환경된다.

1) 단백질 결합체의 제조

이와 낙트륨의 형태로 살기 1에서 기술한 바와 같이 제조된 유도체를 각각 물에 용해시키고 pH 8로 조절하고, 0°C로 냉각된다. 또한 0°C로 냉각된 3-(3-(3-디페닐아미노프로필)-1-에틸 카르보디이미드의 용액을 유도체 낙트륨염과 첨가하고 이온수리에 키르복실레이트가 완전히 흥당되는 2분 동안 친화시키도록 한다.

각각의 유도체를 중류온 달이온수(水)에 용해시키고 이어서 허기 단백질 중 하나에 결합시킨다.

소 혼합 일부분 (분자량 약 68,000)

당 강미 글로벌 분자량 (125,000-750,000)

키홀 립트트 혼모사아닌 (분자량 3,000,000-7,000,000)

용액을 휘저어 쉬으면서 단백질에 첨가하여 부하를 수행하고 결합을 완결시키는 수시간 동안 5°C에서 혼합물을 친화시킨다. 필요하면 pH 8로 조절한다. 부하된 단백질을 혼합 투여액을 변화시키면서 5 내지 7일 동안 pH 7.3의 액수 암산액 등으로 푸석시키고, 부하된 ¹⁴C 생능 측정에 의해 결합한다.

[실시에 2]

[모노클론(monoclonal) 항체의 생성]

PBA 및 소 혼합 일부분의 결합체(15 µM PBA/단백질의 용)를 사용하여 항체를 생성한다. PBA-소현성 아부인을 실시해 111尧Ci 물질로 실시해 1尧Ci 물질로 사용하여 제조한다.

8 마리 투자 풀리트(Geisel/c, 암컷)를 PBA 결합체(0.1 mL, 50 µg) 및 프로아이드 양전 예주번트(Fraund's complete adjuvant)의 1:1 유탁액으로 피하를 통해 유전시킨다. 각 동물을 통한전 예주번트와 함께 3주 간격으로 3회 주사를 받는다. 유사한 암성법으로, 또 다른 6마리 동물을 보다 높은 투여량의 결합체(200 µg)를 빙여들이인다. 12마리 동물로부터 얻은 혈청-생물은 효소-결합 면역 흡착 분석(ELISA)에 의해 PBA에 대한 특이 결합을 시험한다.

가장 높은 항정 능도로 항체를 생성하는 동물로부터 배장을 재거하고, 비세로(肺鉗鉗)는 PK3-63-A09-653 갈수-종시피(이합류국 비세로드주) 코크俚에서 아미리타인 암 퀘 콜렉스으로부터 ATCC CRL 1580로 구입하거나 능히나 외의 용법에 사용된다. 하이브리드마(mybridoma) 세포를 96-풀(well) 미리작성 판에 분비시킨다. 세포 성장에 있어서, 상동에 조직 배양 유전물을 ELSA로 의해 항체 생성 여부에 대해 시험한다. ELISA 방법에서 고정상 PBA 표적에 대한 항체 결합의 저해를 측정하기 위하여 유리 PBA를 시료 시스템에 첨가함으로서 죽이성을 평가할 수 있다. 여러 양식 텔로부티 세포를 성장시켜 세포 재감물을 생성한 후 제한 회색 기술로 확인된다. 또한 세포성장에 있어서, 결합 형성은 상동물을 상기한 바와 같이 시험하고, 여러 암성법의 내용들을 성장시킨다. 다시 평가된다. 두 번째 톤로님은 있어서, 양성으로 확인된 뒤 내의 세포를 여러 분석 단계를 위한 충분한 모노클론 항체를 확보하는 상당액을 생성시키도록 성장시킨다.

증강기기 유도에 대한 모노클론 항체를 확보하는 상당액을 생성하기 위해, 52개의 플론 세포 하이브리드마를 헉체-충부 복수(聚首)의 성장을 위해 선택한다. 하이브리드마 중 프리스만-처리(pristane-primed)은 암 마리 암컷 위(9a/b/c)를 하이브리드마 207 이하로 빽간에 접종한다. 퍼수액을 수확하고, 한대 모으고 심하게 풀어 장착된다.

항체를 실험실 내 휘저어 쉬은 조제 배양 용기 내에서 하이브리드마 세포를 성장시켜서 제조한다.

물론 세포 하이브리드마 중 하나의 샘플을 수작 번호 6901101a로 1969년 1월 10일경, 경국, 살리스비리 SP4 01b, 프로트 디うま 소재한, 용액 미생물 및 연구를 위한 PHS 센터, 풍물 세포 배양의 유럽 협회에 기록했다.

[실시에 3]

[마킹된 윤활유의 분석]

n-페닐시양산 10 ppm을 함유하는 마킹된 윤활유(생 삼표면 리플라 X(Rimular X)로 구입 가능)를 제조한다. 다양한 백분율(%)로 마킹된 오일 및 미오일 오일을 함유하는 일련의 샘플 2ml를 제조한다.

허기 박발에 의해, PBA를 각 오일로부터 분석을 위해 추출한다.

[오일로부터 PBA 추출]

1. 진공 청정기이 수입될, 오일 샘플을 가능한 용기에 둔다. 0.05M 트리스/HCl (pH 7.5)의 20% 아세토나트릴(1 부피) 및 엑손(5부피)을 오일에 접기 후 용액을 밀봉한다. 혼합물을 1분 동안 훈들고 결과 혼성된 현탁액을 분리하도록 한다. 이것은 약 30초가 소요된다.

2. 분리된 현탁액은 1회용 풀라스틱 퍼팅을 사용하여 분리된 혼합물을 보다 낮은 상으로부터 차해서 3ml의 배드 배드(Read Etat) 펌프(존스 쿠리어드 그레이피로부터 얻어진 이온 교환 수자 펌프)에 적용시킨다. 주출 생물에 압력을 가하여 펌프를 흡거시키고 현탁액을 중류수의 4 × 1ml의 분사량으로 세척된다.

3. 현탁액을 엄수 내 트렌(Tween) 20 0.05 부피%의 용액 2ml로 용출시킨다. 이 용액은 힘의 결합된 PBA를 제거한다. 각각의 회수된 PBA 용액을 힘의 경쟁적 효소-결합 면역 흡착 분석(ELISA)에 적용시킨다.

【면역 분석 방법(비색법으로 검출)】

2. 분석된 PBA-함유 음액을 실시부 2에서 기술된 바와 같이 제조된 재한 수준의 특이 모노글루тен 형체와 혼재하여 이바-코팅처리된 펄 내에 드는 형체의 층율을 1:1000으로 희석하여 사용한다. 형체의 기준은 절대 세포의 표면상에서 부동성인 PBA 및 혼용 펄 내 PBA 사이의 이 형체의 경계에 대한 경계점이다. 고정경계점이므로 주기 후, 펄 내 음액을 제거하고 펄을 세척한다. 세척 후, 펄 내에 남아 있는 형체는 부동화 PBA에 걸리므로 주기 후, 펄 내에 남아 있는 형체의 수준은 유리 음액 내에 막서 존재하는 PBA의 수준에 반비례한다.

111

생물번호	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
제산치	75	25	100	0	50	0	33	100	10	50
세트A 관측치	47	14	100	0	50	0	29	100	0	42
세트B 관측치	76	33	93	0	55	0	22	118	31	55

[실시예 4]

【분석 키트의 조립 및 마킹된 운동 유의 분석에 있어서 분석 키트의 사용】

3개 이하의 윤활유 모조 생물에 시험하기에 적당한 분석키트를 조립한다. 키트는 하기(1)~(11)을 포함한다:

(1) PBA-닭 갑아 글로불린 결합체로 코팅시킨 5개의 플라스틱 큐브(하기한 바와 같이 제조함):

(2) 5개의 이온 교환 수지 컬럼, (존스 크로마토그래피로부터 얻어진 3ml의 NH 본드 엘리트(Bond Elut) 컬럼:

(3) 0.05M 트리스/HCl (pH 7.5)내 40% 아세토나트륨 2m. 및 혼산 8mL로 이루어진 10mL 부피의 추출 용매 5개:

(4) 10 ppm의 n-페녹시벤조산을 함유하는 윤활유 생플 1개(마킹은 진품의 샘플을 나타냄)

(5) m-페녹시벤조산을 함유하지 않은 음활유 생풀 1개

(8) 0.05% w/w 트립 20(폴리옥시에틸렌-솔비탄 모노락우레이트, 시그마 캐미칼 컴파니로부터 구입 가능, 카탈로그 번호 P1378)을 험유하는 임상용 풀 염증액으로 10배 험석시킨 2ml 부피의 PBA-특이적 모노글루탐 향체 540PPB, 엑소사이드로부터 정제 형태로 구입 가능):

(7) 1부피의 헤체-호소 결합체 (DAKO 리아티드로부터 구입 가능, 카탈로그 번호 P161, 생쥐 면역 글로불린 내지 토키 면역 글로불린과 결합한 양고추냉이 퍼옥시다제(peroxidase)를 포함함):

(8) 화학발광 기질(아메르라이트 시그널 시약, 아메르삼 인터내셔널 PLC로부터 구입 가능, 카탈로그 번호 LAN 4400):

(g) 염수 내 0.05% (v/v) 트리 20(ST)로 이루어진 세액:

(10) 증류수로 이루어진 컬럼 세제: 및

〈11〉 지식 사이트 1개

[PBA-담 갑마 글로불린 결합체로 코팅시킨 플라스틱 튜브의 제조]

실시에 10 μ l의 기술된 비와 같이 재조된 고정된 수준의 PBA-을 감마 글로불린 결합체로 플라스틱 큐브를 코팅 시킨다. 고정을 수행하기 위해, 20 μ g/ml의 농도로 500ml 결합체의 측정된 분취량을 큐브에 넣는다. 이후, 실온에서 3시간 동안 배양하고 흡착에 의해 고정의 재생성은 수준을 얻는다. 고정 시간 후, 실시에 3회 기술된 염증/트립 응액(ST)로 큐브를 세척하고, 건조시키고 비광학하게 4°C에서, 최대한 큐브 내에 저장된다.

[마킹된 큐브 유분석에 있어서 분석 키트의 사용]

- 분석을 수행하기 위해서서, 첫 번째 단계에서 재조자의 자시에 따라 화학 발광 기질을 재조한다.
- 실시에 0.5 봉법에 따르, 5 부피의 추출 용액 및 5개의 다른 고정 큐브를 사용하여 윤활유의 일련지지 않은 각자의 샘플과 키트에 속한 윤활유의 두 개의 샘플을 추출한다. 이후 큐브를 2개의 2ml 분취량으로 세척한다.
- 기질 각각을 2ml 부피의 PBA-특이적 모노글은 형체를 함유하는 작은 유리병 내로 2ml 분취량의 세척으로 응집시킨다.
- 병의 내용물을 혼란한 후, 5 혼합을 각각으로부터 적어도 500 μ l를 PBA-와 감마 글로불린 결합체로 코팅시킨 5개의 플라스틱 큐브에 이송한다. 5분 후 큐브 내 용액을 따라내고 큐브를 세척으로 한 번 세척한다.
- 형체-호소 결합체 용액 500 μ l를 큐브 각각에 첨가한다. 5분 동안 배양시킨 후 큐브의 내용물을 따라내고 큐브를 세척으로 다섯 번 세척한다.

- 화학 발광 기질(1ml)을 큐브에 첨가하고 2분 후 최대용 발동기를 장착한 큐브 광도계(디노테크 러브레 이도리 러미티드로부터 구입 가능)의 사용을 위해 재조자의 자시에 따라 광출액을 측정한다. 자시의 해설은 0~내지 99% 범위 내 3 디지트이다.
- 4주 동안, 두가지 적동에 의해 수행된다. 일련의 35 분석에 대해 봉법의 재생성을 평가한다. 일련의 실험에 대한 편차의 증감 분석율(CV)은 9.1%이다. 분석을 점검하여 수행하는 경우, 포지티브 대조용(보다 낮은 농도)은 네가티브 대조용(보다 높은 농도)의 비율이 0.612±0.058(즉, ±1 표준편차(SD))인 것으로 밝혀졌다. 알려지지 않은 일련에 대한 0.725 이상의 같은 가능한 모조 생물을 나타낸다.

[실시에 5]

[마킹된 기술원의 분석]

기인(화학) 기술원 및 비기인 기술원의 13ml 생물을 3가지 수준의 PBA(10.5 및 2.5 ppm)로 미팅한다. 이들을 트립스-만화액(2ml, 0.05M, pH 7.5)으로 추출한다. 실시에 3회 기술된 비와 같이 추출물을 분석하고 미팅되지 않은 기술원 추출물을 재조된 표준 고정곡선을 사용하여 PBA 양을 평가한다. 측정되는 추출 효율을 기능화하고 측정치와 이론치 사이의 비교를 하 풍화도록 범시아리얼링된 PBA를 함유하는 생물을 제조한다. 결과를 표 2에 나타낸다.

표 2)

마킹의자 않은 가술원 추출물의 고정 곡선에 대해
분석한 수성 샘플들에 대한 이론치 및 측정치의 비교

농도	화학원 10 ppm 추출물				화학원 5 ppm 추출물			
	10 ppm	5 ppm	2.5 ppm		10 ppm	5 ppm	2.5 ppm	
간호·기술원	대조용 추출물	1.1.2	1.1.4	1.1.8	추출물	1.1.2	1.1.4	추출물
이론치(방사화학)	0	46*	23	11.5	5.7	23	11.4	5.7
측정치	0.9	47	22.5	11.0	6.4	29	13.5	5.3
비기인 기술원								
이론치(방사화학)	0	33	16.2	8.1	4.1	15.5	7.7	3.9
측정치	0.9	41	18.5	7.0	3.8	14.5	6.2	3.4

* 모든값은 ppm으로 한다.

여들 결과는 13ml의 기술원으로부터 2ml의 트리스 완충액 내로 PBA를 추출함으로써 얻어진 농도 효과를 살펴보며, 번역 분석으로 PBA로 미팅된 기술원이 미팅되지 않은 기술원과는 다른 수 있음을 납득하도록 설명한다.

[실시에 6]

[마킹된 약제의 분석]

200 μ g의 고정 PBA를 함유하는, 파不具备물(아세트아이노펜-가네온, 풍증의 진정제 및 해열제) 및 나프록센(비-스테로이드 핵-염제)의 마킹된 샘플들을 제조한다. 각 분량(1g)을 20ml의 유리병 내 10ml의 PGS/트립

(실시에 4에 기술된)에 참가한다. 미친가지로 두 가지 물질에 대하여 마킹되지 않은 분석 대조물을 제조한다. 일정 비율 담보로서 대조를 PBA/트윈 내로 주출한다. 흰점분리시켜 분해되지 않은 물질을 분리한다. 산증액의 설정부분량(250 μ l)은 250 μ l의 PBA 흡수액 항체에 참가하고 실시에 4에 기술된 바와 유사하게 분석 기드를 사용하여 분석한다. 표 30에 나타난 결과로부터, 마킹된 항체가 마킹되지 않은 항체와는 명백하게 구별됨을 알 수 있다.

11-3

항체	마킹되지 않은*	마킹된*	비율(%)
파라세타몰	400	288	72
	334	275	70
	377	283	75
	378	278	74
	281	206	73
	266	203	76
	386	303	78
	398	267	67
	517	357	69
	480	378	79
	469	379	80
나프록센	평균비율 = 74	표준편차 = 4.2	편차율 = 5.7%
	517	350	68
	503	337	67
	355	260	73
	313	226	72
	279	185	66
	269	220	81
	269	204	76
	245	153	54
	평균비율 = 71	표준편차 = 5.7	편차율 = 8.0%

* 실시에 4에 기술된 뷔브 용도계에 나타난 값을 읽는다.

[실시에 7]

[마킹된 항체와 분석]

20pm의 PBA를 암유하는 오래 코동의 생물을 제조한다. 2ml의 마킹된 물질과 2ml의 마킹되지 않은 물질을 작은 유리시험관에 넣고 초기 건조되도록 만만한 공기 흐름 내에서 증발시킨다. 2ml의 PBS/트윈(실시에 4에 기술된)은 오일성 감류물에 참가하고 뷔브 내 용액을 분리함에 의해 겨울하게 혼합한다. 뷔브다루기로, 뿐만 아니라 물질분리에 의해 분리하고 산증액의 생물 분위장을 실시에 6에 기술된 바와 같이 분석한다. 표 30에 나타난 결과로부터 마킹된 항체가 마킹되지 않은 상당분과는 명백하게 다를 수 있다.

[표 4]

항료	마킹되지 않은*	마킹됨*	비율(%)
오데코롱	866	104	12
	851	243	29
	655	107	16
	722	133	18
	710	126	18
	782	106	25
평균비율 = 20		표준편차 = 6.2	편차율 = 31.6%

* 나타낸 값을 실시에 4에 기술된 뷰트 광도계로부터 읽는다.

세로운 접근으로서 마킹된 및 마킹되지 않은 오데 코롱 PBA/트럼으로 10배로 확식시키고, 실시에 60에 기술된 바와 같이 직접 분석한다. 표 5에 결과를 나타내었으며 이 세로운 방법도 마킹되지 않은 항료의 마킹된 항료 사이에 명백한 차이가 있음을 보여준다.

[표 5]

항료	마킹되지 않은*	마킹됨*	비율(%)
오데코롱	736	499	68
	780	522	69
	494	324	66
	382	267	70
	401	233	58
	385	257	68
	352	210	60
	484	307	63
	640	426	67
평균비율 = 65.4		표준편차 = 4.2	편차율 = 6.4%

[실시에 8]

[마킹된 음료의 분석]

20ppm의 PBA를 함유하는 블렌딩사진 위스키 샘플을 제조한다. 마킹되지 않은 위스키의 살을하는 샘플 및 마킹된 위스키를 PBA/트럼으로 4배로 확식시키고 실시에 5에 기술된 방법을 사용하여 샘플 분위량(250 μ l)을 분석한다. 표 6에 나타낸 결과는 마킹된 위스키가 마킹되지 않은 위스키와는 명백하게 다른점을 살펴본다.

(II 6)

유보	마켓되고 있는수	마켓점수	비율(%)
위스키	375	119	31
	396	158	39
	381	180	47
	446	110	25
	435	104	24
	427	109	26
	431	95	22
	421	116	28
	387	117	30
	440	88	19
	412	122	30
	396	122	32
	353	107	30
	474	115	24
	452	106	23
	446	111	25
평균비율 = 28.4		표준편차 = 6.9	편차율 = 2.4%

* 나타낸 값은 실시에 4에 기술된 유보 평도계로부터 얻어진다. 이

실시에에서 성성판 시그널을 전개시키는데 약 20 분이 소요됨에 유의한다.

(57) 흥구의 범위

흥구형 1

제품에 부착하며 제품에 대하여 결합상이며 제품과 마찰 결합되어 있지 않은 합판을 미카로서 제품과 결합시킨 다음에 이후에 제품을 확인하기 위하여 수단으로서 상기 합판을 이에 상보적인 결합 부재와 특이적으로 결합시킨데 의하여 제품 내에서 합판을 결합하는 단계로 구성되는 제품을 미방하고 나서 제품을 확인하기 위하여 수단으로 제품 내에서 미카 합판들을 결합하는 방법.

흥구형 2

제1항에 있어서, 합친 미카가 제품에 직접 결합되는 방법.

흥구형 3

제2항에 있어서, 합친 미카가 제품과 혼합되는 방법.

흥구형 5

제4항에 있어서, 제품이 석유 제품인 방법.

흥구형 6

제2항에 있어서, 제품이 고체이고 합판은 제품의 표면에 적용되는 방법.

흥구형 7

제1항에 있어서, 합친 미카가 제품과 결합된 태그(tag)나 포장지에 결합되거나 부착되는 방법.

흥구형 8

제1항에 있어서, 합친 미카가 제과류제조산인 방법.

흥구형 9

제1항에 있어서, 상보적 결합 부재가 합판에 대한 항체인 방법.

첨구형 10

(a) 산업적 석유 제품과 (b) 풍성적으로는 상기 석유 제품에 결합되지 않는 합성 머커를 함께 혼합하여 포장하는 마킹된 제품.